Stratégies de limitation des sulfites dans les vins – Quelles alternatives?

Partie 3/3: L'axe antioxydant – Anticipation et conservation

Olivier Pillet¹, François Davaux², Bertrand Robillard¹

- ¹ Institut Œnologique de Champagne Épernay France.
- ² Institut Français de la Vigne et du Vin Lisle-sur-Tarn France.

Introduction

Les deux premières parties de cet article ont exposé différentes alternatives vis-à-vis de l'utilisation du SO₂ lors des étapes préfermentaires et fermentaires, détaillant le rôle d'outils microbiologiques à la fois sur la gestion des contaminants microbiens et sur la limitation de la production de sulfites et composés combinants. Cette troisième et dernière partie, sans se vouloir exhaustive, présente des pistes alternatives partielles ou totales à l'usage du dioxyde de soufre comme agent de protection contre l'oxydation.

Le SO₂ contre l'oxydation, une victoire partielle

Le rôle du SO₂ contre les réactions d'oxydation est double:

un rôle direct, en premier lieu, en interagissant directement sur l'oxygène dissous et les quinones; un rôle indirect ensuite, d'inhibition des oxydases du raisin ou exogènes (issues de l'activité de *Botrytis*).

Nous nous intéresserons ici au rôle antioxydant direct du SO₂. Pour autant, la gestion d'un itinéraire de voie de réduction des sulfites ne saurait se passer d'une vendange parfaitement saine, impliquant donc un tri drastique en cas de conditions défavorables, afin notamment d'éviter la présence de l'activité laccase produite par Botrytis cinerea. Vis-à-vis de la menace oxydasique, les techniques de chauffage de la vendange constituent évidemment des outils intéressants d'inactivation enzymatique, d'autant plus que des études récentes (Sire et al., 2016) mettent en évidence une activité polyphénoloxydase résiduelle dans certains vins post fermentation alcoolique.

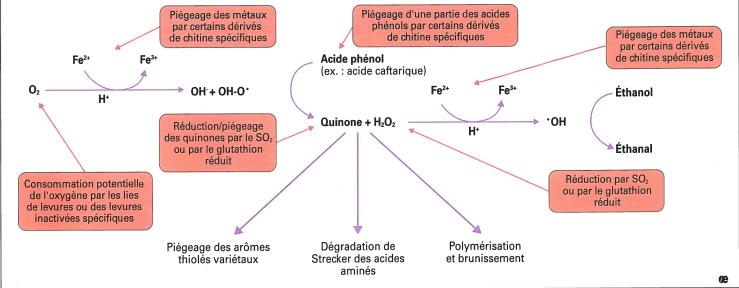
La *figure 1* relate les mécanismes oxydatifs principaux opérant dans un vin (*Ugliano, 2013*). Très schématiquement, l'oxygène, *via* des réactions accélérées par des métaux tels que fer et cuivre, provoque l'apparition de radicaux libres susceptibles d'oxyder les acides phénols du moût (notamment l'acide caftarique) en quinones. Ces quinones, à leur tour, sont de puissants agents d'oxydation par différentes voies: formation d'aldéhydes par dégradation de Strecker des acides aminés, formation de quinones (puis brunissement) par oxydation de la catéchine ou d'autres polyphénols et par polymérisation, condensation de ces quinones avec les composés soufrés, notamment les arômes positifs de type thiols variétaux.

Un tripeptide présent naturellement dans le raisin à des teneurs variables, le glutathion réduit (GSH), peut intervenir dans ces réactions au niveau des quinones et bloquer une partie des oxydations qu'elles engendrent (*Kritzinger et al., 2013*).

L'équation générale de l'oxydation du SO₂ en sulfates nous indique que 1 mg d'oxygène consomme théoriquement 4 mg de SO₂, ce qui n'est jamais observé en réalité. Le dioxyde de soufre libre agit en réduisant les quinones ou l'eau oxygénée (H₂O₂), préservant ainsi les composés qu'ils oxydent. L'oxydation du SO₂ par l'oxygène sans intermédiaire intervient peu.

En règle générale et à condition de ne pas subir de production de SO₂ d'origine fermentaire, on ne retrouve pas dans les dosages de

■ Figure 1: Formation des ortho-quinones et de peroxyde d'hydrogène et conséquences sur l'oxydation de l'éthanol et les autres réactions préjudiciables à la qualité des vins (d'après Ugliano, 2013). Rôle du SO₂ et d'alternatives potentielles.



 SO_2 total réalisés après fermentation alcoolique l'ensemble du SO_2 ajouté sur moût. Si une partie peut être réduite par la levure en H_2S par exemple, les faibles quantités impliquées dans ce métabolisme ne justifient pas les écarts observés.

En revanche, il est fréquent voire systématique de retrouver des teneurs plus élevées en sulfate, provenant de l'oxydation des sulfites. Dans les expérimentations que nous avons menées sur les deux millésimes 2014 et 2015, sur Chardonnay et Sauvignon (tableau 1 A, B),

■ Tableau 1: Bilans d'augmentation des sulfates et sulfites sur des expérimentations comparant une modalité à sulftage pleine dose à une modalité non (2014) ou peu sulfitée (2015). ② Expérimentation menée en 2014, sur Sauvignon et Chardonnay. ③ Expérimentation menée en 2015, sur Sauvignon et Chardonnay. La modalité peu sulfitée n'a pas été sulfitée sur moût, mais l'a été post FA à demi-dose puis à la mise en bouteilles à demi-dose.

A	Sauvignon 2014	Chardonnay 2014
Protocole de sulfitage de la modalité sulfitée pleine dose	Sulfité 4 g/hl sur moût puis 1 g/hl post FA et 0,5 g/hl à la mise	Sulfité 4 g/hl sur moût puis 3 g/hl post FA et 3 g/hl à la mise
	Moût après débourbage	Vin fin FA avant sulfitage
Augmentation de SO ₂ total par rapport au non sulfité (mg/l) (Frantz Paul)	+ 27	+ 9
Augmentation de sulfate par rapport au non sulfité en équivalents SO ₂ (mg/l)	+ 19	+ 33
Bilan total augmentation SO ₂ + SO ₄ (mg/l)	+ 46	+ 42
Différentiel de SO₂ ajouté entre modalité pleine dose et modalité non sulfitée (mg/l)	+ 40	+ 40
	Vins 1 mois après mise	
Augmentation de SO ₂ total par rapport au non sulfité (mg/l) (Frantz Paul)	+ 62	+ 55
Augmentation de sulfate par rapport au non sulfité en équivalents SO ₂ (mg/l)	+ 30	+ 26
Bilan total augmentation SO ₂ + SO ₄ (mg/l)	+ 92	+ 81
Différentiel de SO₂ ajouté entre modalité pleine dose et modalité non sulfitée (mg/l)	+ 55	+ 100

B	Sauvignon 2015	Chardonnay 2015
Protocole de sulfitage de la modalité sulfitée pleine dose	Sulfité 4 g/hl sur moût puis 1,4 g/hl post FA et 0,4 g/hl à la mise	Sulfité 4 g/hl sur moût puis 3 ghl post FA et 2,5 g/hl à la mise
	Vins 1 mois après mise	
Augmentation de SO ₂ total par rapport au peu sulfité (mg/l) (Frantz Paul)	+40	+36
Augmentation de sulfate par rapport au peu sulfité en équivalents SO ₂ (mg/l)	+15	+55
Bilan total augmentation SO ₂ + SO ₄ (mg/l)	+55	+91
Différentiel de SO₂ ajouté entre modalité pleine dose et modalité peu sulfitée (mg/l)	+49	+68

nous avons pu ainsi noter des augmentations des concentrations en sulfate entre le moût non encore sulfité et le vin post FA, et surtout entre les vins issus de modalités non-sulfitées sur moût et celles issues de modalités ayant reçu un apport de 4 g/hl de SO₂ après pressurage. À quelques variations près, on retrouve généralement à chaque étape le SO₂ ajouté en faisant la somme des sulfites et des sulfates analysés.

Il n'y a donc pas disparition du SO₂ ajouté puisqu'on retrouve celui-ci en partie sous forme de sulfate, ce sulfate constitue même au minimum 30 % du total sulfite + sulfate analysé. Il n'est pas sans incidence sur la qualité des vins, puisqu'on lui attribue des propriétés amères, dures, ou encore asséchantes.

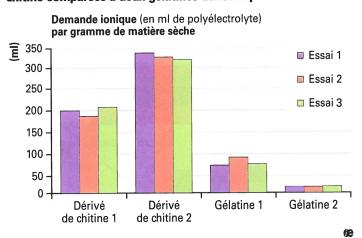
Les dérivés de chitine, une autre approche pour intervenir sur les mécanismes oxydatifs

Une technique particulièrement innovante pour traiter mais aussi prévenir les oxydations a vu le jour récemment. Il s'agit de l'emploi de dérivés de chitine d'origine fongique, autorisés depuis quelques années en œnologie. Ces polymères sont ainsi d'origine naturelle – dans la mesure où la chitine est largement répandue chez les êtres vivants –, non allergènes, non issus d'origines animales et biodégradables.

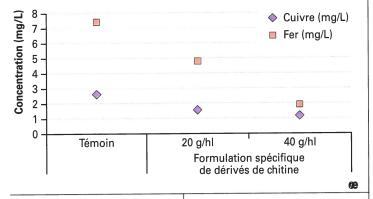
Certains de ces dérivés de chitine sont chargés positivement au pH du vin, ce qui leur donne de fortes capacités potentielles d'interaction avec certains composés du vin. En sélectionnant les dérivés de chitine présentant la plus forte charge ionique (quantification des charges à la surface des colloïdes) (Delavigne et al., 2014), on peut ainsi espérant avoir un agent de collage particulièrement actif (figure 2). L'une de ces activités est la chélation (le piégeage) des métaux et notamment ceux qui catalysent les oxydations: le fer et le cuivre (Danilewicz, 2003). On peut observer en figure 3 cette capacité importante du dérivé de chitine sélectionné dans ce but, avec des diminutions pouvant atteindre 75 %. Une récente étude (Heritier et al., 2016) a mis en évidence l'importance des teneurs en métaux sur les teneurs en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans le vin, puissant oxydant. La seconde approche offerte par certains dérivés de chitine est l'élimination partielle des acides phénols qui sont le substrat des oxydations. Il a ainsi été montré dans certaines conditions (Eder, 2011) une diminution des teneurs en acide caftarique équivalente à celle de la PVPP et plus importante qu'avec la caséine ou une association gélatine/silice.

Enfin nous avons également mis en évidence récemment la capacité antiradicalaire d'un dérivé de chitine (Cassien et al., 2015).

■ Figure 2: Demandes ioniques comparées de deux dérivés de chitine comparées à deux gélatines utilisées pour la flottation.



■ Figure 3: Effet chélatant d'une formulation spécifique de dérivés de chitine vis-à-vis du fer et du cuivre dans un vin blanc. La formulation est ajoutée après sa mise en suspension dans 10 fois son poids d'eau, puis les modalités sont filtrées après 24 heures de contact.



À ce titre, il faut souligner que bon nombre de réactions d'oxydation du vin sont liées à des intermédiaires de type radicaux libres extrêmement réactifs et l'inhibition de ces réactions radicalaires contribue à fortement ralentir voire stopper les processus oxydatifs.

L'ensemble de ces études a permis de formuler un produit naturel, Qi NoOx, dont l'efficacité contre l'oxydation est basée sur la combinaison de ces propriétés d'intérêt. Il représente un outil alternatif particulièrement utile si l'on cherche à limiter l'utilisation des sulfites sur moût et sur vin.

Anticiper la richesse en antioxydants du vin... en agissant sur le moût

Comme relaté précédemment, le glutathion réduit (GSH) peut se révéler un antioxydant précieux. S'il ne permet pas a priori d'empêcher l'oxydation des acides phénols en quinones, il intervient cependant en se combinant avec ces dernières avant qu'elles ne puissent se polymériser et brunir ou encore oxyder les arômes positifs de type thiols variétaux. Le GSH serait également capable de réagir avec H₂O₂ (Anderson, 1998) en la réduisant.

Le SO₂ s'avère évidemment un puissant protecteur du glutathion des vins, permettant ainsi de conserver le potentiel antioxydant naturel de ces derniers (figure 4 A). Mais dans une stratégie visant à diminuer les teneurs en sulfites, la perspective d'enrichir le vin en glutathion est séduisante.

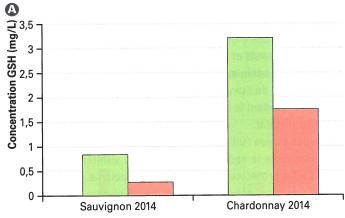
Bien que l'ajout de glutathion pur ne soit pas autorisé dans les produits alimentaires, l'utilisation de lies fraîches ou de levures inactivées est parfaitement admise. Les lies fraîches peuvent contenir des quantités variables de glutathion, mais leur qualité est également incertaine, elles peuvent en outre conserver une activité sulfiteréductase résiduelle causant l'apparition d'odeurs soufrées. En revanche, certaines levures inactivées, rigoureusement sélectionnées quant à elles, sont particulièrement riches en glutathion réduit et ainsi susceptibles de contribuer naturellement et en toute sécurité à optimiser les teneurs du vin en ce peptide, notamment lorsqu'elles sont ajoutées en début de FA (Kritzinger et al., 2013b). Il faut préciser à cet égard que selon le procédé d'obtention et la sélection de levure employée, une levure inactivée peut être riche en glutathion total mais en réalité pauvre en glutathion réduit (la seule forme de glutathion réellement active au regard de l'oxydation), dénotant une présence au contraire importante de glutathion oxydé qui lui ne présente aucun intérêt technologique.

Nous avons réalisé, dans le cadre de vinifications à faibles additions de sulfites, un essai comparatif pour évaluer l'intérêt d'une ■ Figure 4: Impacts de différents agents de protection contre l'oxydation sur la préservation ou l'augmentation des teneurs en glutathion réduit (GSH).

(1) Impact du sulfitage sur la préservation des teneurs en glutathion réduit des vins.

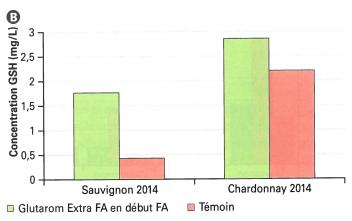
(20 g/hl) sur l'augmentation alcoolique de Glutarom Extra (20 g/hl) sur l'augmentation des teneurs en glutathion réduit des vins issus d'un itinéraire alternatif à faible sulfitage (Sauvignon: 3,8 mg/L – Chardonnay: 15 mg/L).

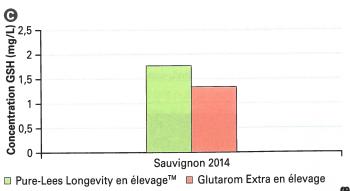
(i) Impacts comparés d'un ajout après fermentation alcoolique de Glutarom Extra ou de Pure-Lees™ Longevity (20 g/hl) sur les teneurs en glutathion réduit des vins issus d'un itinéraire alternatif à faible sulfitage (3,8 mg/L).



Sulfité pleine dose encuvage (40 mg/l) puis post FA et à la mise en bouteille (Sauvignon : 10 + 5 mg/L – Chardonnay : 30 + 30 mg/L)

Non sulfité encuvage – Sulfité au 1/4 dose post FA et à la mise en bouteille (Sauvignon : 2,5 + 1,3 mg/L – Chardonnay : 7,5 + 7,5 mg/L)





levure inactivée particulièrement riche en glutathion réduit, Glutarom Extra. Cette levure inactivée a été ajoutée juste après levurage du moût à la dose de 20 g/hl selon des conditions décrites précédemment (Pillet, 2016). Les résultats permettent de valider l'obtention de teneurs plus élevées en glutathion réduit sur les modalités peu sulfitées avec addition de la levure inactivée spécifique (figure 4 b), mais également, une meilleure tenue à l'air du vin obtenu (Pillet,

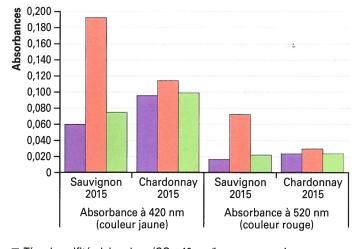
2016), confortant le pouvoir antioxydant du glutathion réduit. Si cette « alternative-lies » ne permet pas de se passer complètement de SO₂, elle contribue cependant à en limiter la dose d'utilisation.

Protéger le vin contre l'oxygène pendant son élevage et sa conservation: consommation de l'oxygène dissous par des alternatives-lies

Récemment (Fornairon et al., 1999) a été mise en évidence la capacité de consommation de l'oxygène par les lies de levures, consommation liée directement à une oxydation lente et progressive de lipides cellulaires. Cette capacité semble cependant variable selon les conditions de fermentation et les souches de levure qui sont à l'œuvre. C'est pourquoi des études récentes menées en collaboration avec l'INRA (Sieczkowski et al., 2016a et 2016b) ont visé à sélectionner au travers d'un crible massif une levure inactivée spécifique à forte consommation de l'oxygène dissous qui puisse être appliquée en élevage ou pendant le stockage des vins en toute sécurité et répétabilité du résultat.

Nous avons évalué l'utilisation de cette levure inactivée, Pure-Lees™ Longevity, dans le cadre d'itinéraires peu sulfités. La figure 4 C reflète l'effet protecteur de cette levure inactivée sur les teneurs en GSH des vins, dépassant l'effet d'enrichissement permis par

■ Figure 5: Effet protecteur de Pure-Lees™ Longevity vis-à-vis du brunissement oxydatif des vins (tenue à l'air sur 20 heures).



- Témoin sulfité pleine dose (SO₂: 40 mg/L encuvage puis 14 mg/L (Sauvignon) ou 30 mg/L (Chardonnay) post FA)
- Témoin peu sulfité (SO₂: 0 mg/L encuvage puis 1/2 dose post FA)

Tél. 03

Glutarom Extra lorsque celuici est ajouté après fermentation alcoolique. La levure inactivée Pure-Lees™ Longevity relargue nettement moins de glutathion que Glutarom Extra, mais le protège davantage contre l'oxydation grâce à sa capacité de consommation de l'oxygène dissous. Ces résultats illustrent parfaitement la spécificité des levures inactivées.

Nous avons également pu noter les excellentes tenues à l'air permises par un ajout de cette alternative-lie consommatrice d'oxygène dissous; ici, après fermentation alcoolique et juste après introduction du produit dans le vin issu d'un itinéraire non sulfité (figure 5) : le vin ne subit pas davantage de brunissement que s'il avait été sulfité, contrairement au vin témoin non sulfité et sans levure inactivée ajoutée post FA.

D'autres résultats indiquent que dans certains cas, l'utilisation de Pure-Lees™ Longevity permet aussi de préserver davantage le SO₂ de l'oxydation, et donc d'en optimiser les teneurs.

L'emploi de cette levure inactivée consommatrice d'oxygène dissous est particulièrement intéressant dans un itinéraire de réduction de l'usage des sulfites, en cela qu'elle neutralise les oxydations à leur source, avant toute action de l'oxygène sur les acides phénols par exemple. Son emploi est validé pour protéger le vin de légères mais préjudiciables exposition à l'air durant

(rares sont les contenants totalement étanches) ou encore lors d'un transfert.

Conclusion

Des moyens innovants, efficaces et d'origine naturelle ont été récemment développés pour faire face à l'oxydation dans un objectif de limitation des teneurs en sulfites dans les vins. Ces outils sont à utiliser au cas par cas une fois identifiés les points de vulnérabilité du moût et du vin vis-à-vis de l'oxygène. À l'heure actuelle, ils ne se substituent pas à eux seuls au SO₂ mais permettent d'en limiter l'usage ou d'en accroître l'efficacité. Ils doivent cependant être employés conjointement aux précautions d'usage dans de tels itinéraires: excellent état sanitaire de la vendange, gestion de l'acidité, contrôle des températures, désoxygénation et maîtrise des inertages tout au long du processus de vinification, et enfin, cohérence avec les contraintes techniques et économiques des structures de vinification.

Remerciements: Les auteurs tiennent à remercier tout particulièrement Nathalie Sieczkowski, Anthony Silvano, et Amélie Roy pour leur contribution à ces résultats.

NDLR: Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur simple demande auprès de la Revue des Œnologues.

- Par courrier: joindre une enveloppe affranchie, avec les références de l'article
- Sur internet: www.oeno.tm.fr

NDLR: La première partie de cet article a été publiée dans le n° 160 (juillet 2016) et

